

多剤排出トランスポーター P 糖タンパク質のリンカー領域の薬物輸送における役割

○佐藤 友美<sup>1</sup>, 小段 篤史<sup>2</sup>, 木村 泰久<sup>3</sup>, 植田 和光<sup>2,3</sup>, 中津 亨<sup>1</sup>, 加藤 博章<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>京大院薬, <sup>2</sup>京大iCeMS, <sup>3</sup>京大院農)

〔目的〕 P 糖タンパク質 (P-gp) は、抗癌剤治療の障害となる多剤排出トランスポーターであり、ATP の加水分解エネルギーを利用して構造の異なる多様な薬物を細胞外へと排出する。P-gp は、ABC タンパク質ファミリーに属し、2つの基本構造単位がリンカー領域により連結された構造を持つ。一方、細菌由来の P-gp ホモログは基本構造単位のホモ 2 量体で機能し、リンカー領域が存在しない。そのため、リンカー領域の役割に興味を持たれる。本研究では、均一に精製したヒト P-gp を用いてリンカー領域の構造と機能について生化学的な解析を行った。

〔方法・結果および考察〕 数種類のプロテアーゼにより、精製した P-gp を限定加水分解し、N 末端配列解析により切断部位を同定した。その結果、プロテアーゼの種類に関わらず、リンカー領域のみが切断を受け、リンカー領域以外の 2 つの基本構造単位は比較的安定であった。また、ATP 加水分解活性、熱安定性、ゲルろ過分析の結果から、リンカー領域を切断しても P-gp の立体構造に大きな影響を及ぼさないことが示唆された。次いで、リンカー領域が輸送基質の認識に与える影響を調べるため、ATP 加水分解活性を指標として様々な輸送基質に対して速度論的解析を行った。その結果、リンカー領域の切断により、いずれの輸送基質に対しても  $k_{cat}$  値が上昇することが明らかになった。P-gp ホモログの MsbA の構造から、この活性上昇の理由は、リンカー領域が ATP 加水分解の際に必要な構造変化を阻害するためであることが示唆された。また、基質特異性の指標である  $k_{cat}/K_m$  値の比較から、リンカー領域の切断により P-gp の基質特異性が変化することが判明した。以上の結果より、P-gp のリンカー領域は、ATP 加水分解活性の制御と本来の基質特異性を示すのに必要であることが示唆された。